مجله طب دامپزشکی جایگزین | زمستان ۱۳۹۹ | دوره ۳ | شماره ۷

مقاله پژوهشی

جدا سازی و شناسایی مولکولی *استرپتوکوکوس میوتانس* و ارزیابی اثر ضد میکروبی برخی عصاره گیاهان دارویی بر آنها

گلرخ انصاری، مجید باصری صالحی*

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۱ اصلاح نهایی: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: با افزایش مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها در اثر استفاده بیش از حد آنها، یافتن داروهای جایگزین با خواص آنتی باکتریال با کمترین عوارض جانبی ضروری به نظر می رسد. امروزه گیاهان دارویی به عنوان داروی جدید جهت کاهش مقاومت باکتری ها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی مولکولی مهمترین عامل پوسیدگی دندان *استرپتوکوکوس میوتانس* و ارزیابی اثر ضد میکروبی برخی گیا هان دارویی بر روی جدایه ها می باشد.

مواد و روش ها: برای انجام این تحقیق ۵۰ نمونه از دهان افراد معمولی جمع آوری شد و بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. علاوه بر این، ۲۷ گیاه دارویی خریداری شد و عصاره آبی و هیدروالکلی آنها تهیه گردید. سپس اثرات ضد میکروبی عصاره آبی و هیدروالکلی گیاهان دارویی بر روی جدایه های میکروبی دهان بررسی شد. در ادامه این روندکمترین غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و کمترین غلظت کشنده (MBC) و واحد آربیتوری گیاهان موثر تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که استرپتوکوکوس ها فلور نرمال غالب دهان بودند و میزان *استرپتوکوکوس میوتانس* در جدایه ها زیاد بودند. یافته های این تحقیق نشان داده که گیاه مازو دارای خاصیت ضد میکروبی بر علیه فلور نرمال دهان بخصوص *استرپتوکوکوس میوتانس* می باشد. به گونه ایی که کمترین MIC، MBC و واحد آربیتوری برای این گیاه دارویی ثبت گردید.

نتیجه گیری: بنابراین یافته های این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره گیاه مازو می تواند باعث کاهش عفونت دهان و دندان گردد. گرچه این یافته نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

واژه های کلیدی: *استرپتوکوکوس میوتانس، پوسیدگی دندان، گیاهان دارویی، فعالیت ضد باکتریایی*

* *نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.*

تلفن: 09171157862، Email: majidbaserisalehi682@gmail.com

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

مقدمه

پوسیدگی دندان نوعی بیماری عفونی است که باکتری‌ها در ایجاد آن نقش دارند. این بیماری با از بین بردن مینا و عاج دندان باعث ایجاد حفره در سطوح مختلف دندان می‌شود (Vallim *et al.*, 2021). امروزه اثبات شده است که غالب بر ۷۰۰ گونه باکتریایی در حفره دهان وجود دارد که برخی از آنها می توانند در ایجاد عفونت مشارکت داشته باشند (Warinner *et al.*, 2015).

بعضی ازاین باکتری‌ها در تشکیل بیوفیلم مرکب و پیچیده نقش دارند. در واقع بیوفیلم دهان یک جامعه سه بعدی از باکتری‌های متصل به سطوح دهان می‌باشد که بطور قابل توجهی بر روی مینای دندان یافت می‌شوند (Guo *et al.*, 2014). تشکیل بیوفیلم دهانی در چندین مرحله رخ می‌دهد: ابتدا چسبندگی باکتری کلنی اولیه رخ می‌دهد و سپس بالغ شده و بیوفیلم تشکیل می‌دهد، در مرحله بعد کلنی‌ها به هم وصل شده و بعد از بلوغ بیوفیلم از آن کنده شده و در جاهای دیگر پخش می‌شوند (O'Toole, 2011). ترکیبات تشکیل شده بیوفیلم بعنوان گیرنده‌هایی عمل می‌کنند که باکترهای در مرحله اول تشکیل کلنی به آن می‌چسبند (Guo *et al.*, 2012). باکتری‌هایی که در مراحل اولیه تشکیل کلنی مشارکت می‌نمایند عمدتاً شامل استرپتوکوک‌ها بخصوص *استرپتوکوکوس میتیس* و *استرپتوکوکوس اورالیس* به همراه گونه‌های *گوردونی* و *سانگوینیس می باشند*. اگرچه گونه‌های *اکتینومایسز*نیز از ارگانیسم‌هایی هستند که در تشکیل کلنی اولیه بیوفیلم دهانی شرکت دارند (Kolenbrander, 2011).

این کلنی‌های اولیه ابتدا به سطوح چسبنده خاصی متصل می‌شوند، سپس بطور غیرقابل برگشتی به عناصر لایه نازک (لایه سطحی) وصل می‌شوند (Zhu and Kreth, 2012).

از طرف دیگر با افزایش مقاومت های ناشی از استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک ها، یافتن داروهای جایگزین که هم دارای خواص آنتی باکتریال بوده و هم کم ترین عوارض جانبی را برای انسان به همراه داشته باشند، ضروری به نظر می رسد. تا قبل از قرن ۱۹ میلادی استفاده از منابع طبیعی و عمدتاً گیاهان از راههای اصلی درمان بسیاری از بیماری ها بوده است. درمحدودهٔ درمان‌های دندانپزشکی و بویژه علم پریودنتولوژی نیز مواد ضد میکروبی چه بصورت خوراکی و چه بشکل موضعی در جهت کاهش فلور میکروبی دهان قبل از جراحی لثه و در طول مدت ترمیم بعد از جراحی و حتی بطور روزمره جهت کنترل پلاک باکتریال در دهان استفاده فراوان دارد. از طرف دیگر در سال های اخیر کاربرد گیاهان دارویی با توجه به عوارض و هزینه کمتر و سازگاری بیماران به این داروها

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

افزایش یافته است. در ایران نزدیک به هشت هزار گونه گیاهی می روید که اغلب این گیاهان می توانند دارای اثرهای دارویی باشند (Zargar *et al*., 2013).

بنابراین در مطالعه حاضر به منظور کمک به معرفی دارویی جهت کاهش میکروفلورای دهان این باکتری ها از دهان افراد بومی جدا و شناسایی شدند، سپس اثر گیاهان دارویی بر جدایه ها به صورت برون تنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه ها و شناسایی فنوتیپی باکتری های نرمال فلور دهان

در این مطالعه توصیفی- مقطعی نمونه از شستشوی دهان تعداد ۵۰ نفر داوطلب از مهر تا دی ماه سال ۱۳۹۸ (بمدت ۴ ماه) به صورت داوطلبانه جمع آوری گردید. جهت جمع آوری نمونه با استفاده از سواپ استریل نمونه بزاق از سطوح مختلف دهان (دندان ها ، لثه و سطح زبان) نمونه گرفته و به صورت سه خطی بر محیط کشت مولر هینتون کشت داده شدند. سپس با استفاده از لوپ استریل نمونه ها بر روی سطح محیط به صورت سه خطی پخش گردیدند. پلیت های به دست آمده در انکوباتور به مدت ۷۲-۲۴ ساعت دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرمخانه گزاری شدند. پس از این مدت کلنی های رشد کرده جداسازی و در پلیت های جداگانه خالص و نگهداری شدند. برای شناسایی فنوتیپی جدایه های باکتریایی در مرحله اول از رنگ آمیزی و تست های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، قندها (گلوکز، لاکتوز و سوکروز) استفاده گردید.

شناسایی مولکولی جدایه های فلور دهان

استخراج DNA در مطالعه حاضر با استفاده از دستورالعمل کیت استخراج DNA یکتا تجهیز انجام شد و برای واکنش زنجیرهایی پلی مراز از بعد از اینکه شناسایی اولیه سویه‌های صورت گرفت، برای شناسایی مولکولی از پرایمر عمومی ژن 16SrDNAاستفاده گردید (جدول۱) (Duployez *et al*., 2017). از طرف دیگر برنامه دمایی انجام واکنش زنجیره ایی پلی مراز در جدول ۲ مشاهده می گردد. محصولات به دست آمده از PCR در ژل الکتروفورز آگاروز مورد آنالیز قرار گرفتند. ۱۰ ماکرولیتر از محصول واکنش زنجیره ایی پلی مراز با ۲ ماکرولیتر از لودینگ بافر 6X مخلوط شده و در ژل آگاروز ۱ درصد با ولتاژ ۸۰ میلی ولت به مدت ۴۵ دقیقه بارگذاری شدند. در کنار نمونه ها از ماکر استاندارد 1Kb محصول شرکت Thermo استفاده شد. نمونه‌های بارگذاری شده در نهایت با دستگاه ژل داک مشاهده و مورد بررسی قرار گرفتند(Lorenz, 2012). محصول PCR به دست آمده در انتها برای توالی یابی از

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

طریق شرکت سیناژن به ماکروژن کره فرستاده شد. سپس اطلاعات با استفاده از طریق نرم‌افزار NCBI، Blast گردید.

نام پرایمر	ژن هدف	توالی ('3→'5)	طول قطعه
16srRNA-F	16srRNA	TTGGCTTGTGCTAAAATATC	140 bp
16srRNA-R		GTCATCGCTATCATTCACCT	

جدول ۱. توالی پرایمرهای فوروارد و ریورس برای تکثیر ژن 16SrRNA

مرحله	دما (c)	زمان (دقیقه)	تعداد سیکل
Primary denaturation	۹۵	۵ دقیقه	۱
Denaturation	۹۵	۳۰ ثانیه	
Annealing	۵۸	۲۰ ثانیه	۳۰
Extension	۷۲	۳۰ ثانیه	
Final extension	۷۲	۴ دقیقه	۱

جدول ۲. برنامه PCR ژن 16SrRNA

ارزیابی اثر گیاهان دارویی بر فلور نرمال دهان

گیاهان دارویی در تحقیق حاضر گل خطمی، گل مریمی، بی مادرون سبز، بی مادرون زرد، کلپوره، اقسنتین، ترخون، بادرنجویه، انیسون، کارلمه، مرزنجوش، بهمن پیج، زنیون، مازو، تاج ریزی، انزروت، چکیده سرد، پوست بید، شمبلیله، گل بابونه، پرکنار، گل بنفشه آبی، استقودوس، خارخسک، پرسیاوش، پر مورد، بلوط می باشد که همه آنها از فروشگاه های عطاری های شهرستان کازرون و ممسنی خریداری گردید. همه گیاهان با استفاده از نور خورشید خشک شده و پس از آسیاب در شیشه های تیره درب دار نگهداری شدند.

همچنین باکتری های نمونه استاندارد *استرپتوکوک موتانس* ATCC35668 از مرکز کلکسیون میکروبی ایران تهیه گردید.

تهیه عصاره هیدرو الکلی گیاهان

۵۰ گرم از گیاهان جمع آوری شده در تحقیق حاضر با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن گردید و درون ارلن ریخته شد سپس ۱۰۰ میلی لیتر الکل اتانول ۷۰درصد بر روی آن‌ها ریخته و ارلن‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای جلوگیری از تبخیر درب ارلن‌ها مسدود گردید. پس از ۲۴ ساعت محلول اتانول به وسیله کاغذ صافی واتمن ۱۰ از گیاه

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

جدا شده و درون ارلن ریخته شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند(Andrews *et al.*,2012).

تهیه عصاره آبی

۵۰ گرم از گیاهان مورد نظر در تحقیق حاضر با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن گردید سپس ۱۰۰ میلی لیتر آب به تمامی گیاهان به صورت مجزا در ارلن ۲۵۰ سی سی اضافه گردید. محلول درون ارلن ها جوشانده شد و پس از ۵ دقیقه با استفاده از فیلتر واتمن ۱۰ عصاره آبی تمامی گیاهان گرفته شده و در شیشه های درب دار استریل تیره ریخته شده و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهان داروی بر جدایه های نرمال فلور دهان

برای انجام این آزمون باکتری‌ها را بر روی محیط مولر هینتون به صورت جداگانه کشت سطحی داده و با استفاده از بورل استریل چاهک درون هر آگار ایجاد گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از هر عصاره گیاهی (آبی و آبی الکلی) درون چاهک ها به صورت جداگانه ریخته شدند. درب پلیت‌ها بسته و برای انتشار عصاره گیاهان درون آگار به مدت ۶ ساعت در انکوباتور به صورت قرار داده و پس از جذب کامل عصاره گیاهان در آگار، گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت منطقه ممانعت شده از رشد را برای هر عصاره اندازه گیری کرده و ثبت گردید. برای انجام این ازمون برروی *استرپوکوکوس موتانس* استاندارد، سوش ATCC35668 از مرکز کلکسیون به صورت لیو فلیزه خریداری گردید. سپس با رعایت شرایط استاندارد در ازمایشگاه باز کرده و محیط مایع مغذی درون لوله ریخته و به مدت ۶ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از این دوره لوله حاوی محلول خارج شده و همانند موارد عنوان شده بالا اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی بر روی سوش استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)، کمترین غلظت کشنده (MBC) و واحد آربیتوری عصاره گیاهان پر مورد، بلوط، خارخسک و مازو

برای انجام این آزمون از *استرپتوکوکوس موتانس* استاندارد ATCC 35668 و جدایه های استرپتوکوکوس میوتانس استفاده گردید. به این گونه که باکتری در محیط مایع مغز و قلب کشت داده و کدورت را برابر با غلظت نیم لوله مک فارلن $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfv/ml رسانده نیم میلی لیتر از سوسپانسیون فوق به ۱۰ لوله اضافه گردید (غلظت های متفاوت ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶، ۱/۵۱۲) عصاره تهیه کرده و نیم میلی لیتر از هر غلظت به لوله ها اضاف گردید. و

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

تمامی لوله ها در انکوباتور به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار گرفتند. پس از این دوره کمترین غلظتی از عصاره ها که از رشد *استرپتوکوکوس موتانس* جلوگیری کرده بودندن به عنوان MIC و واحد آربیتوری در نظر گرفته شد.پس از تعیین کمترین غلظت ممانعت از رشد گیاهان دارویی ۰.۱میلی لیتر غلظت های که در لوله هایی که رشد نداشتند بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و پلیت ها در انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سیلسیوس قرار گرفتند. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت کمترین غلظتی که رشد نداشتند به عنوان کمترین غلظت کشنده یا MBC تعیین و تثبیت گردید (Andrews 2001).

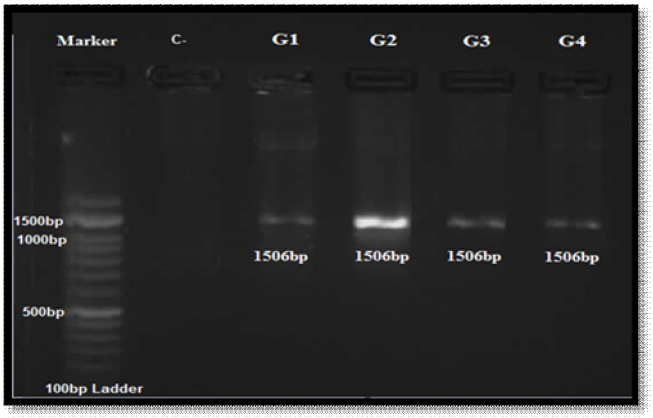
آنالیز آماری

آنالیز اماری در این تحقیق با استفاده از نرم افزار version 21 SPSS استفاده گردید. به منظور مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان از تست آماری آزمون های پارامتریک T-test گیاهان استفاده گردید.

نتایج

شناسایی باکتری های نرمال فلور دهان

بطور کل باکتری های گوناگونی در دهان تمامی افراد شناسایی گردید. اگرچه استرپتوکوکوس ها بطور غالب در تمامی افراد مشاهده شده. با استفاده از شناسایی فنوتیپی نشان داده است که جدایه ها *استرپتوکوکوس موتانس* به عنوان مهمترین عامل پوسیدگی دندان در اکثر نمونه ها وجود داشت بودند که ۴ سویه آن مورد تایید مولکولی قرار گرفت (شکل ۱ و جدول ۳).



شکل ۱. ژل الکتروفورسیس و مشاهده محصول PCR. از چپ ردیف اول مارکر ۱۰۰ ردیف دوم: کنترل منفی. ستون شماره سوم تا ششم محصول PCR, ژن 16SrRNA

Isolates	Accession Number
Streptococcus mutans LAR01	CP0234771
Streptococcus mutans ChDC YM75	DQ777752.1
Streptococcus mutans H19	KP975182.1
Streptococcus mutans MGBGSU01	MT318140.1

جدول ۳. تعیین هویت جدایه های باکتریایی با استفاده از تعیین توالی ژن 16SrDNA

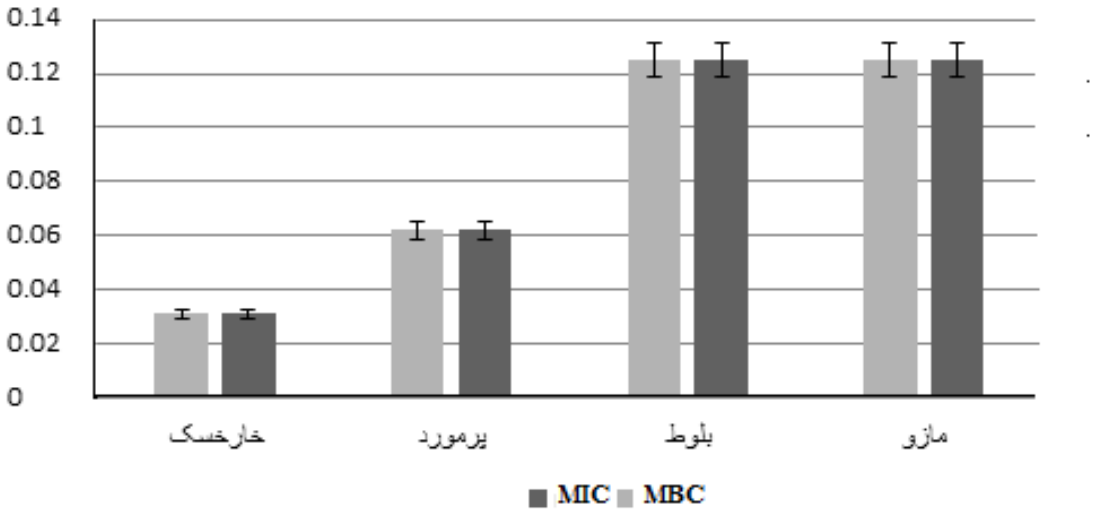
عصاره گیاهان	واحد آربیتوری
مازو	۲
بلوط	۲
پرمورد	٤
خارخاسک	۸

جدول ٤. واحد آربیتوری

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

تعیین اثر عصاره گیاهان بر جدایه های استرپتوکوکوس موتانس

نتایج بدست آمده از اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی اتانول و عصاره آبی از گیاهان اثر ضد میکروبی به صورت متفاوت نشان دادند اگرچه بیشترین تاثیر به ترتیب در ارتباط با مازو، بلوط، پر مورد و خارخسک بود. از چهار گیاه موثر عموما عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی‌ها تاثیر بیشتری داشت. هر چهار گیاه انتخاب شده اثر ضد میکروبی بر *استرپتوکوکوس موتانس* استاندارد داشتند که بیشترین تاثیر در ارتباط با مازو و بلوط و کمترین تاثیر در ارتباط با خارخسک مشاهده گردید.



نمودار ۱. میانگین کمترین غلظت ممانعت کننده (MIC) از رشدو کمترین غلظت کشنده(MBC) گیاهان دارویی بر استرپتوکوکوس موتانس های جدا شده

تعیین کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد، کمترین غلظت کشنده

نتایج بدست آمده نشان داد که کمترین غلظت ممانت شده از رشد *استرپتوکوکوس موتانس* استاندارد و جدایه های *استرپتوکوکوس موتانس* برای گیاه مازو ۱/۲، برای گیاه بلوط۱/۲، برای گیاه مورد۱/۴ و برای گیاه خارخسک ۱/۸ می باشد (نمودار ۱)، که کمترین MBC و MIC مربوط به مازو و بلوط و بیشترین مربوط به خارخسک می باشد.

تعیین واحد آربیتوری عصاره گیاهان

برای تعیین واحد آربیتوری عموما معکوس کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد را واحد آربیتوری در نظر گرفته می شود که بیشترین واحد اربیتوری مربوط به خارخسک و

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

کمترین واحد آربیتوری مربوط به مازو و بلوط می باشد (جدول۴). لازم به ذکر است که نتایج بدست آمده از کمترین غلظت کشنده گیاهان دارویی استفاده شده در تحقیق حاضر با کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری ها عموما مساوی بودند.

بحث

استرپتوکوکوس های دهانی نقش موثری در ایجاد پلاک های دندانی و ایجاد پوسیدگی دارند. از مهمترین گونه این باکتری ها *استرپتوکوکوس موتانس* است که نقش اصلی آن در ایجاد پوسیدگی دندان به اثبات رسیده است (Robertsson *et al.*, 2020). همانگونه که در نتایج به دست آمده عنوان گردید در تحقیق حاضر بیشتر نمونه های جمع آوری شده حاوی استرپتوکوکوس ها بودند، اگرچه به علت اهمیت *استرپتوکوکوس موتانس* و نقش موثر آن در ایجاد پوسیدگی دندان چهارسویه این باکتری به صورت مولکولی مورد تایید قرار گرفت. امروزه استفاده از آنتی بیوتیک ها جهت درمان عفونت ها بسیار رایج است ، در حالیکه مهمترین ضرر استفاده آنتی بیوتیک ها استفاده بی رویه از این ترکیبات و ایجاد مقاومت در باکتری ها است (Mohammadi-Sichani *et al.*, 2011). در این روند Chandrabhan و همکارانش در مطالعه ای بیان نمودند که در تست حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک های رایج ، باکتری هایی که تولید اسید می کنند نسبت به آنتی بیوتیک ها مقاوم بیشتری نشان می دهند (Chandrabhan *et al.*, 2010). امروزه مشخص شده است که درعفونت های مختلف دهان و لثه می توان از آنتی بیوتیک ها استفاده شود اگرچه پس از ایجاد و تشکیل پلاک استفاده از آنتی بیوتیک ها جهت درمان بدون فایده می باشد. به همین دلیل پیش گیری از ایجاد پوسیدگی دندان می تواند بطور موثری ارجح به درمان در نظر گرفته شود. بنابر این رعایت بهداشت دهان و دندان از جمله فعالیت هایی است که برای پیش گیری از پوسیدگی دندان ها بطور همگانی پیشنهاد می شود. اخیرا جهت کاهش مصرف آنتی بیوتیک ها محققین اثرات مختلف عصاره گیاهان مانند اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد سرطانی مورد بررسی قرار داده اند. در این روند shan و همکارانش بیان کردند که به طور کلی باکتری های گرم مثبت در برابر عصاره های گیاهی میخک ، نعناع چمنی و هلیله سیاه نسبت به باکتری های گرم منفی حساس تر هستند (Shan *et al.*, 2011).

در مطالعه ایی که در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت نشان داده شد که عصاره بعضی گیاهان دارویی خاصیت ضد میکروبی بر رشد سویه های استرپتوکوکوس سالیواریس داشته اند (Houshmand *et al.*, 2011). در تحقیق حاضر اثر چهار گیاه مازو، بلوط، پر مورد، و خارخسک بر جدایه های

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

استرپتوکوکوس موتانس ارزیابی گردید. نتایج بدست آمده نشان دادند که بیشترین تاثیر ضد میکروبی به ترتیب در ارتباط با مازو، بلوط، پر مورد و خارخسک بوده است. در تحقیق محمدی سیچانی و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که عصاره های متانولی، اتانولی و استونی مازو خاصیت ضدباکتریایی برعلیه *استرپتوکوکوس موتانس* داشتند. اگرچه عصاره آبی مازو فعالیت ضدمیکروبی نشان نداد. در این روند عصاره های متانولی، اتانولی و استونی گیاهانی مانند مازو را بر علیه *استرپتوکوکوس موتانس جدا شده از دهان بررس یشد و نتایج نشان داد که* عصاره های مازو در غلظت های بالاتر از ۱۹/۵میکروگرم در میلی لیتر مانع از تشکیل بیوفیلم *استرپتوکوکوس موتانس* می گردد (Mohammadi-Sichani *et al.*, 2015) که این یافته با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر همخوانی دارد.

نتیجه گیری

استفاده از گیاهان داروئی می تواند روشی برای پیشگیری و حتی درمان عفونت های دهان و دندان درنظر گرفته شود. یافته های این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره گیاهانی مانند ماز می تواند روش مناسبی برای پیش گیری از عفونت های دهان و حتی پوسیدگی دندان در نظر گرفته شود. بنابر پیشنهاد می گردد که عصاره هیدروالکلی مازو را به ترکیبات دهان شوی و حتی خمیر دندان اضافه گردد که بتوان بطور موثری از بیماری های دهان و دندان جلوگیری نماید. اگرچه برای اطمینان از یافته های این تحقیق مطالعات بیشتری می بایست انجام گیرد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از کارکنان آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون کمال تشکر و قدردانی به عمل می آورند.

تعارض منافع: نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافع اعلام نمی نمایند.

References

Andrews JA. and Neises KD. Cells, biomarkers, and post-traumatic stress disorder: evidence for peripheral involvement in a central disease. J Neuroche, 2012; 120(1): 26-36.

Chandrabhan D., Hemlata R., Renu B. and Pradeep V. Isolation of dental caries bacteria from dental plaque and effect of tooth pastes on acidogenic bacteria. Open J Med Microbiol, 2012; 2(3): 65-69.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

Duployez C., Loïez C., Ledoux G., Armand S., Jaillette E. and Wallet F. A fatal endocarditis case due to an emerging bacterium: Moraxella nonliquefaciens. IDCases. 2017; 8: 12-3.

Guo L., He X. and Shi W. Intercellular communications in multispecies oral microbial communities. Front Microbiol, 2014; 5: 328.

Guo W., Gong K., Shi H., Zhu G., He Y., Ding B., et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. Biomaterials, 2012; 33(5): 1291-302.

Houshmand B., Mortazavi H., Alikhani Y., Abdolsamadi H., AhmadiMotemayel F. and Zare Mahmoudabadi R. In vitro evaluation of antibacterial effect of myrtus extract with different concentrations on some oral bacteria. J Mashhad Dent, 2011; 35(2): 123-30.

Kolenbrander PE. Multispecies communities: interspecies interactions influence growth on saliva as sole nutritional source. Int J Oral sci, 2011; 3(2): 49-54.

Lorenz TC. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. J Vis Exp, 2012; 22(63): e3998.

O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. Journal of visualized experiments. Vis Exp, 2011; 47: 2437

Robertsson C., Svensäter G., Blum Z. and Wickström C. Intracellular Ser/Thr/Tyr phosphoproteome of the oral commensal Streptococcus gordonii DL1. BMC Microbiol, 2020; 20(1): 1-7.

Shan B., Cai YZ., Brooks JD. and Corke H. Potential application of spice and herb extracts as natural preservatives in cheese. J Med Food, 2011; 14(3): 284-90.

Vallim AC., Gaio EJ., Oppermann RV., Rösing CK., Albandar JM., Susin C., et al. Obesity as a risk factor for tooth loss over 5 years: A population-based cohort study. J Clin Periodontol, 2021; 48(1): 15-24.

Warinner C., Speller C., Collins MJ. and Lewis Jr CM. Ancient human microbiomes. J Hum Evol, 2015; 79: 125-36.

Zargar ST., Joshi J. and Tipper D. A survey of defense mechanisms against distributed denial of service (DDoS) flooding attacks. IEEE commun, 2013; 15(4): 2046-69.

Zhu L. and Kreth J. The role of hydrogen peroxide in environmental adaptation of oral microbial communities. Oxid Med Cell Longev. 2012; 2012.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]

Journal of Alternative Veterinary Medicine
(JOAVM) Winter 2020; 3(7): 366-376

Research Article

Isolation and molecular Identification of *Streptococcus mutans* and evaluation of the antimicrobial effect of some herbal plant extracts on them

Gholrokh Ansari, Majid Baserisalehi*

Department of Microbiology, faculty of science, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 22/Sep/2020 Revised: 30/Nov/2020 Accepted: 5/Dec/2020

Abstract

Background and aim: Overuse of antibiotics culminated in increasing of frequency of occurrence of antibiotic resistant bacteria. Therefore, new drugs with minimum complication are needed. Nowadays, herbal drugs as new remedy have been considered to reduce frequency of occurrence of antibiotic resistant bacteria. The purpose of this study was isolation and molecular identification of *Streptococcus mutans* as an important agent of dental decay and the evaluation of antimicrobial effect of herbal medicine on them.

Materials and methods: To perform the study 50 oral samples were collected from ordinary people and cultivated on the nutrient agar plates. In addition, 27 herbal medicine plants were purchased and water and hydro alcoholic extracts of them were prepared. Then, the antimicrobial effects of water and hydro alcoholic extracts of herbal medicine plants were evaluated on the isolates. In addition, MIC, MBC and Arbitrary units of the effective herbal medicine plants were determined.

Results: The results indicated that *Streptococcus* was predominant oral microflora and *Streptococcus mutans* were isolated in high frequency. Out of all herbal plants, Mazoo plant, oak plant, *Myrtus commuis* and *Tribulus terrestris* exhibited high antimicrobial property on *Streptococcus mutans* isolates. However, hydroalcolic Mazoo plant extract showed relatively more antimicrobial effect. Furthermore, MIC, MBC and Arbitrary unit of the Mazoo plant extract was relatively less. Hence, our finding showed antimicrobial effect of Mazoo plant extracts on oral microbiota *viz., Streptococcus mutans*.

Conclusion: Therefore, consumption of aliquot of hydroalcolic Mazoo plant extract can be eliminated oral infections as well as dental decay. However, it needs more investigation.

Keywords: *Streptococcus mutans, dental decay, herbal medicine, antimicrobial effect*

**** Corresponding author:***
Department of Microbiology, faculty of science, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
Tel: 09171157862, Email: majidbaserisalehi682@gmail.com

Cite this article as: Ansari G. and Baserisalehi M. Isolation and molecular Identification of *Streptococcus mutans* and evaluation of the antimicrobial effect of some herbal plant extract on them. J Altern Vet Med, 2020; 3(7): 366-376.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-12]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.2.8]